

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

副腎ホルモン産生異常に関する調査研究

平成 17～19 年度 総合研究報告書

主任研究者 藤 枝 憲 二

平成 20 年 3 月

目次

I. 序文	1
II. 総合研究報告	2
主任研究者 旭川医科大学小児科	藤枝憲二
III. 分担研究報告書	
(1) 副腎ホルモン産生異常症の診療ガイドライン作成に向けて	
原発性アルドステロン症の診断の問題点とその対処法に関する検討	19
横浜労災病院内分泌代謝内科	
西川哲男、齋藤 淳、松澤陽子、伊藤浩子、大村昌夫	
原発性アルドステロン症の疫学の基盤研究	22
京都大学大学院医学研究科内分泌代謝内科	
田村尚久	
副腎皮質移植と副腎酵素欠損症についての研究	28
北海道大学大学院医学研究科小児科	
田島敏広	
北海道におけるステロイドホルモン産生異常症登録患者の解析	30
旭川医科大学小児科	
藤枝憲二、鈴木 滋、向井徳男	
副腎偶発腫全国調査からの副腎癌の解析および副腎偶発種の診断・治療指針	33
東邦大学医学部内科学糖尿病・代謝・内分泌科	
上芝 元、一城貴政	
本邦における副腎皮質癌の疫学調査	36
旭川医科大学小児科	
藤枝憲二、鈴木 滋、向井徳男	
東邦大学医学部内科学糖尿病・代謝・内分泌科	
上芝 元	

(2) 副腎の発生・分化機構の解明、副腎不全に対する再生医療治療法の確立	
副腎皮質の発生初期過程に関する研究	39
九州大学大学院医学研究院分子生命科学系	
	諸橋憲一郎
SF-1 による間葉系幹細胞のステロイド産生細胞への分化誘導	41
九州大学大学院医学研究院病態制御内科	
	柳瀬敏彦
ステロイド産生細胞の分化再生に関する研究	44
福井大学医学部医学科生命情報医科学	
	宮本 薫
(3) 副腎ホルモン産生異常症の病因・病態の解明を目的とした基礎的・臨床的研究	
Yeast two-hybrid system を用いた StAR および DAX-1 相互作用因子同定の試み	47
旭川医科大学小児科	
	藤枝憲二、向井徳男、鈴木 滋
機器分析を用いた尿中および血中ステロイドプロファイル分析によるステロイド産生異常症診断法の確立、病態解明、副腎生理機能解析	49
慶應義塾大学医学部小児科	
	長谷川奉延、三輪雅之、池田一成
慶應義塾大学病院中央臨床検査部	
	本間桂子
塩誘導性キナーゼ (SIK) 機能不全時のアルドステロン合成酵素の発現異常	52
帝塚山大学	
	岡本光弘
コレステロール硫酸のステロイドホルモン産生の影響	56
北海道大学大学院医学研究科分子医科学	
	菅原照夫

グルココルチコイド代謝調節異常とメタボリックシンドロームおよび グルココルチコイド抵抗性発症との関連に関する研究	58
浜松医科大学小児科 大関武彦、中川祐一、齋 秀二、藤澤泰子、李仁善、岡田周一、坂口公祥	
新規球状層発現分子 Disabled-2 の役割、およびコルチゾール産生代謝過程の 遺伝的多様性に関する研究	61
岐阜大学大学院医学系研究科内分泌代謝病態学分野 宗 友厚、山田亘子、村松 学、諏訪哲也、武田 純	
ステロイドホルモンレセプターの転写制御メカニズムの解明に関する研究	63
東京大学分子細胞生物学研究所 加藤茂明	
グルココルチコイド作用調節機構に関する研究	65
東京大学医科学研究所先端医療研究センター 田中廣壽、吉川賢忠、清水宣明	
原発性アルドステロン症の診断とアルドステロン作用の調節因子	70
慶應義塾大学医学部内科 柴田洋孝	
グルココルチコイド作用強度の組織特異性とその判定法の検討	71
日本生命済生会附属日生病院総合内科 笠山宗正、浅沼伸行、佐藤文三 大阪大学大学院医学系研究科内分泌・代謝内科学 森田真也、大月道夫	
アルドステロンによる MDM2 遺伝子を介するヒト血管平滑筋細胞の増殖と その臨床的意義に関する研究	75
東北大学大学院医学系研究科病理病態学 笹野公伸	

原発性アルドステロン症の病態生理及び脂肪細胞におけるアルドステロンの 役割に関する検討	78
金沢大学大学院臓器機能制御学(内分泌代謝内科)	
武田仁勇、米田 隆、織田展成、朱傲霜	
アルドステロンの血管内皮細胞への影響について～特にHDL受容体を 介した一酸化窒素産生への作用～	82
香川大学医学部内分泌代謝・血液・免疫・呼吸器内科	
村尾孝児、井町仁美、村岡都美江、石田俊彦	
アルドステロンの血管障害の発生病機構についての研究	85
福井大学医学部第三内科	
宮森 勇、藤井美紀、居軒 功、稲葉 聡	
副腎皮質癌における特異的標的治療対象の発現～免疫組織化学的検索～	86
東北大学大学院医学系研究科病理病態学	
中村恵美、笹野公伸	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	93
V. 診療ガイドライン	136
● 副腎偶発腫の診断・治療指針	
● 原発性アルドステロン症診断の手引き（一般医家向け）（専門医療機関向け）	
● 先天性副腎過形成症の診断基準	
● 先天性副腎低形成症診断の手引き	
VI. 研究班構成員名簿	158

I. 序文

I. 序 文

平成 17 年度に発足した厚生労働省科学研究費補助金による難治性疾患克服研究事業「副腎ホルモン産生異常に関する調査研究」班も今年度で 3 年間が過ぎ、研究成果をまとめる時期となりました。厚生省特定疾患の研究班として発足以来、歴代班長の優れたリーダーシップのもと、多くの分担研究者、研究協力者の先生の努力により、副腎ホルモン産生異常に関連する病因・病態を明らかにし、疫学、診断、治療について数多くの価値ある研究成果を報告してきました。

平成 17 年度に発足した当研究班では難治性疾患克服研究事業の対象疾患として選定された副腎酵素異常症、先天性副腎低形成症、原発性アルドステロン症、グルココルチコイド不応症に重点おきながら、副腎腫瘍などについても研究を継続してきました。さらに、副腎の発生・分化機構やステロイドホルモンの産生、作用に関連する基礎的な研究も進め、新たな治療法として期待される再生医療についての研究にも手を広げました。我が国を代表する副腎研究の専門家に班員としてご参加いただき、深く、また幅広く研究を進めることができたと思っております。また、副腎偶発腫や副腎癌の全国疫学調査や、副腎過形成症の代表的疾患である 21 水酸化酵素欠損症の出生前診断・治療に関する全国アンケート調査を実施し、本邦における実態を明らかにしました。さらに原発性アルドステロン症、先天性副腎過形成症、先天性副腎低形成症、副腎偶発腫に関しては診断基準の作成や改定を行いました。これらの診療ガイドラインを作成できたことは大きな成果であり、今後の診断精度向上やさらなる疫学研究などを通して、順次再改定をはかっていくことで臨床研究に大いに役立つものと考えております。

このように本研究班で対象とした疾患につき、その病因・病態の解明、診断法や治療法の発展・開発などの臨床的研究に加え、副腎ホルモンの合成および作用機構や、副腎の発生・分化・再生に関する基礎的研究まで多くの成果をあげました。本研究班の研究目標に向かってご尽力いただきました分担研究者および研究協力者の方々に心から感謝申し上げますとともに、多くのご助言・ご指導を賜りました厚生労働省健康局疾病対策課難病調査係の方々に厚く御礼申し上げます。

平成 20 年 3 月

「副腎ホルモン産生異常に関する調査研究」班
主任研究者 藤 枝 憲 二

Ⅱ. 総合研究報告書

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総合研究報告書

副腎ホルモン産生異常に関する調査研究

主任研究者：藤枝 憲二 旭川医科大学小児科教授

研究要旨

厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「副腎ホルモン産生異常に関する調査研究」班は平成 17 年度に発足した。本研究班では、「副腎低形成症（アジソン病）」、「副腎酵素欠損症」、「原発性アルドステロン症」、「偽性低アルドステロン症」、「グルココルチコイド抵抗症」の 5 疾患を研究対象として、これら疾患の病因・病態を明らかにし、それに基づいた診断法ならびに治療法を開発することを研究目標として調査研究を行った。さらに疾患の実態調査を行い、診療ガイドラインを作成すること、副腎の発生・分化機構の解明、ステロイド産生と作用機構の解明についても研究目標として研究を継続し、次の成果が得られた。

【副腎ホルモン産生異常症の診療ガイドライン作成】

- ①全国調査を行い、診療ガイドラインとして、一般医家向けおよび専門医療機関向けの「原発性アルドステロン症診断の手引き」を作成した。
- ②「先天性副腎低形成症診断の手引き」を新たに作成し、「先天性副腎過形成症の診断基準」を改訂した。この中で新たな先天性副腎酵素欠損症である P450 oxidoreductase (POR) 異常症の概念、診断基準、治療指針を示すことができた。また、21-水酸化酵素欠損症の出生前診断・治療に関するアンケート調査を行い、その実態を把握した。
- ③副腎偶発腫の全国調査に基づき「副腎偶発腫の診断・治療指針」を作成した。
- ④ホルモン産生副腎癌について副腎偶発腫調査で発見された例での解析及び副腎癌として発見・診断された症例についてアンケート調査を行い解析し、発見の契機・診断・治療の実態を明らかにした。

【副腎の発生・分化機構の解明】

- ①Ad4BP/SF-1 の胎仔副腎皮質特異的エンハサーを同定し、副腎皮質形成機構の一端を明らかにした。
- ②さらにこの Ad4BP/SF-1 胎仔副腎皮質特異的エンハサーを用いて強制的に Ad4BP/SF-1 を発現するトランスジェニックマウスの作成・解析から Ad4BP/SF-1 が細胞増殖を制御することで異所性の副腎皮質形成に寄与していることを明らかにした。

【副腎不全に対する再生医療治療法の確立】

- ①マウス・ヒト骨髄間葉系細胞、脂肪由来間葉系細胞に Ad4BP/SF-1 を一過性強制導入するこ

とにより多種ステロイドホルモン産生と ACTH 応答性を有するステロイド産生細胞へと分化誘導することに世界で初めて成功した。その他、LRH-1 導入に cAMP 処理を加えることによっても同様の分化誘導を導くことが可能となった。

②副腎皮膜移植により副腎皮質細胞が再生し、ステロイドを産生することを明らかにした。

【副腎ホルモン産生異常症の病因・病態の解明を目的とした基礎的・臨床的研究】

①新規疾患単位として確立した POR 異常症の診断法として LCMS 法による尿中ステロイドホルモンプロファイル解析が有用であることを示した。また、病態形成に関与する新しい胎児期・新生児期特異的男性ホルモン産生経路 (backdoor pathway) の存在を明らかにした。

②副腎皮質から塩誘導性キナーゼ (SIK) をクローニングし、副腎皮質のステロイド産生を制御していることを明らかにし、アルドステロン産生異常にこの SIK が関与していることを示唆した。

③ステロイドスルファターゼ (STS) とコレステロール硫酸 (CS) は、コレステロールのミトコンドリア内移動に重要な Steroidogenic acute regulatory protein (StAR 蛋白) の発現を調節することにより、ステロイドホルモンの産生を調節していることを明らかにした。

④メタボリックシンドローム (MS) およびグルココルチコイド (GC) 抵抗性の発症には GC 代謝異常や、コルチゾールの産生から代謝に至る経路に存在する遺伝的なバリエーションの一部が関与していることを明らかにした。

⑤ステロイド抵抗症の研究において、アンドロゲン受容体が主に下垂体前葉におけるグルココルチコイド受容体の発現を正に制御し、ACTH を介した GC 分泌を調節していることを明らかにした。また、酸化還元反応におけるグルココルチコイド受容体 (GR)、ミネラルコルチコイド受容体 (MR) の転写制御機構の解析を行い、受容体の分解制御による転写活性制御機構の存在を明らかにした。GR の機能調節機構に関与する新しい抑制分子 HEXIMI を発見し、その発現量によって組織の GC 応答性を制御すると考えられた。さらに、アルドステロン作用は MR に時間的、空間的に動員される Ubc9、NF- κ B を含む多様な転写共役因子群が重要であることを示した。GC の作用強度は標的細胞の GR 発現量の差違により異なること、少量 ACTH 試験はグルココルチコイドの下垂体-副腎系抑制作用の判定に有用であることを示した。

⑥原発性アルドステロン症 (PA) の確定診断法について比較検討すると共に、我が国の高血圧患者に占める PA の頻度を実地医家受診患者ベースで明らかにするため全国調査を実施中である。

⑦アルドステロンの血管障害の発生機構は MR を介するゲノム作用によるものと想定され、アルドステロンは血管新生を抑制する作用を有することが明らかにされ、虚血時の臓器障害の一因と考えられた。アルドステロン濃度が過剰となる PA において、血管弛緩反応の低下は動脈硬化性疾患発症に関与していることを明らかにした。また、PA の糖代謝異常には脂肪組織におけるアルドステロンの直接作用が示唆された。

⑧ステロイド (糖質コルチコイド) 補充療法の現状をアンケート調査し、問題点を指摘した。

⑨副腎癌において標的治療の有用性を判定するために、標的因子の発現を検討した結果、

Cetuximab 等の標的因子である EGFR が有意に高発現を示したことから、副腎皮質癌では Cetuximab 等の EGFR に対する標的治療薬が有効である可能性が示唆された。

<分担研究者>

岡本光弘	帝塚山大学現代生活学部 教授
諸橋憲一郎	九州大学大学院医学研究院分子生命科学系機能高分子設計学 教授
加藤茂明	東京大学分子細胞生物学研究所核内情報研究分野 教授
柳瀬敏彦	九州大学大学院医学研究院病態制御内科 准教授
田中廣壽	東京大学医科学研究所先端医療研究センター免疫病態分野 准教授
柴田洋孝	慶應義塾大学医学部内科 専任講師
笹野公伸	東北大学大学院医学系研究科病理診断学 教授
宮森勇	福井大学医学部第3内科 教授
宮本薫	福井大学医学部生命情報医科学講座分子生体情報学 教授
大関武彦	浜松医科大学小児科 教授
笠山宗正	日本生命済生会附属日生病院総合内科 副院長
宗友厚	岐阜大学大学院医学研究科内分泌代謝病態学 准教授
長谷川奉延	慶應義塾大学医学部小児科 准教授
上芝元	東邦大学医学部内科学糖尿病代謝内分泌科 講師
武田仁勇	金沢大学大学院医学系研究科分子病態内科 准教授
村尾孝児	香川大学医学部内分泌代謝・血液・免疫・呼吸器内科 講師
田島敏広	北海道大学大学院医学研究科小児科 講師
菅原照夫	北海道大学大学院医学研究科分子生化学 助教
田村尚久	京都大学大学院医学研究科内分泌代謝科 助教
西川哲男	横浜労災病院内分泌代謝内科 副院長

A. 研究目的

研究対象である「副腎低形成症（アジソン病）」、「副腎酵素欠損症」、「原発性アルドステロン症」、「偽性低アルドステロン症」、「グルココルチコイド抵抗症」の5疾患を中心に副腎ホルモンの産生・作用に異常を示す疾患の病因・病態の解明、そして新たな診断・治療法の開発及び確立を目指す。一部疾患に対してアンケート調査の実施により実態を把握し、これらの成果を基に副腎ホルモン産生異常症の診療ガイドラインを作成する。

①【副腎ホルモン産生異常症の診療ガイドライン作成に向けて】

- A) 早期診断により治癒可能な高血圧患者の同定、医学的・医療経済的改善を目指し、原発性アルドステロン症 (PA) の全国規模の調査により年間診断患者数の把握、高血圧患者に占める本症患者の割合、スクリーニング法の確立とその妥当性を検討する。また、有効な確定診断法、局在診断法の確立を目指す。
- B) 先天性副腎酵素欠損症の出生前診断・治療の現状・問題点を明らかにし、ネットワーク作りを目指す。新規疾患単位として確立した P450 oxidoreductase (POR) 異常症の診断法、スクリーニング法を確立する。副腎酵素異常症の診断基準を作成し、全国疫学調査への資料とする。
- C) 副腎偶発腫の長期予後を明らかにするために全国疫学調査を継続する。
- D) 副腎癌の診療ガイドライン作成を目指し、その実態調査を行う。

②【副腎の発生・分化機構の解明、副腎不全に対する再生医療治療法の確立】

副腎・性腺系細胞への分化調節機構を解析し、副腎低形成症の病態解明を目指す。また、

間葉系細胞からステロイド産生細胞を創出し、再生医療による新たな治療法の開発を目指す。

③【副腎ホルモン産生異常症の病因・病態の解明を目的とした基礎的・臨床的研究】

- A) 先天性副腎疾患（先天性副腎酵素欠損症、先天性副腎低形成症）の原因遺伝子に関する研究を行い、病因・病態に対する新たな知見を提供する。
- B) 副腎ホルモン産生の分子機構を検討する。
- C) 副腎機能に関連してステロイドホルモン受容体との相互作用因子群について検討し、副腎ホルモン抵抗症の病因・病態の解明を目指す。
- D) アルドステロン分泌・作用に関連する基礎研究を行い、PA の病態理解に対する情報を提供する。また、有効な診断法について検討する。
- E) アンケート調査にてステロイド（糖質コルチコイド）補充療法の現状を明らかにする。
- F) 副腎癌に対する標的因子について検討し、標的治療の有用性を判定する。

B. 研究方法

①【副腎ホルモン産生異常症の診療ガイドライン作成に向けて】

原発性アルドステロン症 (PA) について 200 床以上の病院へのアンケート調査を実施する。先天性副腎酵素欠損症の出生前診断・治療の現状調査を、日本小児内分泌学会会員を対象に行う。P450 oxidoreductase (POR) 異常症の診断法、スクリーニング法について診断確定例を対象に LCMS 法にて尿中ステロイドホルモンプロファイルにて検討する。副腎偶発腫のアンケート調査による疫学調査を

継続する。副腎癌の実態調査をアンケート調査にて行う。

②【副腎の発生・分化機構の解明、副腎不全に対する再生医療治療法の確立】

同定した SF-1 胎仔副腎皮質特異的エンハンサーによって SF-1 を発現するマウスを複製し副腎皮質の分化・発生機構を検討する。マウス・ヒト骨髄由来間葉系細胞またヒト脂肪由来間葉系細胞を用いて Ad4BP/SF-1 遺伝子導入によりステロイド産生細胞の樹立を試みる。また、その分子基盤を検討する。

③【副腎ホルモン産生異常症の病因・病態の解明を目的とした基礎的・臨床的研究】

- A) 先天性リポイド過形成症の新たな病因の同定を目指し、yeast two-hybrid 法を用いて StAR 相互作用因子を探索する。
- B) ヒト副腎の培養細胞を用いて塩誘導性キナーゼ (Salt-inducible kinase; SIK) とそのファミリーの発現・活性変動を検討し、アルドステロン合成経路での役割を検討する。
- C) グルココルチコイド受容体 (GR) のデキサメサゾン依存的な転写抑制複合体を生化学的に検索する。特に炎症性転写制御因子 AP-1 との複合体に着目する。複合体因子を同定後、副腎における GR 依存的な AP-1 標的遺伝子発現の抑制に重点を置き機能解析を行う。また、アンドロゲン受容体 (AR) ノックアウトマウスにおける副腎過形成の分子機構を探る。コルチゾールと GR リガンド結合領域の分子生物学的、構造的解析から、新規薬剤のデザイン、合成を行ない、細胞、個体レベルのアッセイ系で検証する。コルチゾールなどの選択的作動薬によって制御される遺伝子を同定し、各組織における作用を解析する。

D) アルドステロン分泌・作用に関連して、血管系や糖代謝に及ぼす影響についての基礎研究を行う。原発性アルドステロン症の有効な診断法について検討する。

E) 日本ステロイドホルモン学会会員を対象にステロイド補充療法のアンケート調査を行う。

F) 摘出された副腎皮質癌および副腎皮質腺腫検体の 10%ホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いて、現在及び近い将来に標的治療の対象となり得る特異的因子の発現を免疫組織化学的に検討する。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析・診断等を行うにあたっては十分なインフォームドコンセントを行った後に行うことは勿論、各研究施設の倫理委員会からの承諾を得た後に実施することとする。また、動物実験に際しても各施設の動物実験指針に基づいて実施することとする。

C. 研究結果

①【副腎ホルモン産生異常症の診療ガイドライン作成に向けて】

1. 一般医家向けおよび専門医療機関向けの「原発性アルドステロン症診断の手引き」を作成した。この手引きをもとに実態調査を行うとともに、実地医家を受診する高血圧患者を対象に調査を行った。2006年度1年間に約950例の患者を把握した。10年前の調査では年間1450例であり、いずれの調査においても稀な疾患であることが確認された。現在詳細な解析を行っているが、高血圧症患者の中に占める本症患者が少ないことが指摘された。この調査の実施により高血圧に潜む二次性高血圧で

ある本症の最新の発症（診断）症例数が明瞭になり、高血圧診療で非専門医にまでその誤診を啓蒙可能となった。今後これらの解析結果を基に診断ガイドラインの策定を行う予定であるが、これにより正診率向上に寄与し、早期診断法を明確に広報できる。PAの約7割が外科的治療で治癒が期待できることから、すべての高血圧患者でPAの鑑別のためのスクリーニング検査を行い、PAを本態性高血圧と鑑別し、適切な治療で治癒に導くことが重要であると考えられた。

2. 「先天性副腎低形成症診断の手引き」、「先天性副腎過形成症の診断基準」を作成した。従来致命的疾患と考えられてきたP450 oxidoreductase (POR) 異常症について新たな先天性副腎酵素欠損症としての概念、診断基準、治療指針を示すことができた。PORはミクロゾームの電子伝達を支配し、多くのP450酵素の活性化に必須であり、その異常によりPOR支配下の酵素について複合型異常を惹起する。そのため、骨異常、外陰部異常、副腎不全を呈することを明らかにした。また、分子遺伝学的研究成果をもとにした先天性副腎酵素異常症（21-水酸化酵素欠損症、リポイド過形成症、3 β -脱水素酵素水酸化酵素欠損症、11 β -水酸化酵素欠損症、17 α -水酸化酵素欠損症）の診断基準の変更を行った。21-水酸化酵素欠損症の出生前診断・治療に関するアンケート調査を行い、その実態を把握した。本邦でも治療を考えている医師が多いが、実際に出生前診断・治療が可能な施設が少ないことが判明したため、早急に診療ガイドライン作成、診断・治療可能な施設の整備、広報活動などに対応できるシ

ステム作りが望まれた。

3. 副腎偶発腫の全国調査に基づき「副腎偶発腫の診断・治療指針」を作成した。
4. ホルモン産生副腎癌について副腎偶発腫調査で発見された例での解析及び副腎癌として発見・診断された症例についてアンケート調査を行い解析し、発見の契機・診断・治療の実態を明らかにした。一般人口における発症率は10万人に3人にすぎないが、我々の統計では副腎偶発腫に占める割合は1000人に14人を占め、副腎偶発腫に占める副腎癌の割合は一般人口に占める割合の5000倍となっている。副腎偶発腫からみた副腎癌は、平均年齢58.8歳、性差はなく、腫瘍側は左右ほぼ同等で、腫瘍径の平均は8.3cmであった。副腎偶発腫全体からみると、大きさは明らかに違っていたが、平均年齢、性差、腫瘍側の左右差は同じであった。診断法で、副腎癌では腹部超音波の割合が、副腎偶発全体と比べて多かったが、これは腫瘍径が大きいいため、超音波でも容易に検出されるからと推定された。副腎癌の画像的特徴として、CTでは辺縁が不整で内部が不均一、造影効果も顕著で不均一に造影され、周辺臓器の圧迫像および局所浸潤を認める。またMRIでは内部が不均一で、肝臓に比べてT1強調画像で低信号、T2強調画像で高信号となることが多く、ガドリニウム造影にて洗い出しの遅い強い造影効果が見られるといった画像的特徴がある。

また、副腎癌のアンケート調査からみた副腎癌の平均生存期間は18カ月、5年生存率は16%と予後不良であり、副腎偶発腫として発見された腫瘍が副腎癌かどうかの鑑別を早期に行い、副腎癌であれば直ち

に治療することが重要である。鑑別には、腫瘍径とともに、従来から有用とされてきたマーカー（血中 DHEA-S、尿中 17-OHCS および尿中 17-KS）、画像的特徴を含めて、総合的に判断しなければならないと考えられた。今後迅速・正確な診断技術の開発、病理診断の標準化が望まれた。

②【副腎の発生・分化機構の解明、副腎不全に対する再生医療治療法の確立】

1. SF-1 の第 4 イントロンに胎仔副腎皮質特異的エンハンサーを同定した。また、このエンハンサーによって SF-1 を発現するマウスを作製したところ、本来の副腎皮質以外に異所性に副腎皮質を誘導する結果を得た。副腎皮質の形成機構を解明する上で重要な知見であるとともに幹細胞を用いた再生医療への貢献、先天性副腎低形成症の病態形成への理解に寄与するものである。今後成人皮質におけるエンハンサーを同定し、胎児副腎から成人副腎への転換のメカニズムを明らかにすることで、副腎皮質形成の全貌を明らかに出来ると期待される。
2. 副腎皮質移植により副腎皮質細胞が再生し、ステロイドを産生することを明らかにした。血液を供給する毛細血管は移植片の周囲から進入し、副腎の洞部内皮に結合し、再生副腎における類洞内皮が発達することを認めた。将来的な治療に対する基礎的データが得られた。
3. マウス・ヒト骨髄間葉系細胞、脂肪由来間葉系細胞に Ad4BP/SF-1、または LRH-1 と cAMP を一過性強制導入することにより多種ステロイドホルモン産生と ACTH 応答性を有するステロイド産生細胞へと分化誘導することに成功した。将来のステロイ

ド産生細胞自家細胞移植に向けて、より細胞入手が容易な脂肪組織の間葉系細胞からのステロイド産生細胞再生を可能にした意義は大きい。この結果は臨床応用を期待させるものであり、今後この過程の分子基盤を解明するとともに自家細胞移植での治療法の開発を行い、ヒトへの応用を目指すべきである。

③【副腎ホルモン産生異常症の病因・病態の解明を目的とした基礎的・臨床的研究】

1. リポイド過形成症の新たな病因候補として StAR 蛋白と相互作用する因子を探索し 3 種の因子を同定した。今後は生体内分布やステロイド合成における役割を検討していく。
2. 新規疾患単位として確立した P450 oxidoreductase 異常症の診断法として LCMSMS 法による尿中ステロイドホルモンプロファイル解析が有用であることを示した。また、病態形成に関与する新しい胎児期・新生児期特異的男性ホルモン産生経路 (backdoor pathway) の存在を明らかにした。この LCMS 法を用いた解析から小児副腎癌では成人副腎癌と同様 11 β -hydroxylase 活性低下を示し、成人副腎癌より高頻度に 3 β HSD 活性低下、17, 20-lyase 活性亢進を示す傾向を認めた。この成結果は、副腎癌が腺腫と異なり、細胞内ステロイド酵素発現にムラのある細胞群の集まりであるという病理報告と矛盾しない。また、小児副腎癌における 3 β -HSD 活性低下、17, 20-lyase 活性亢進は DHEA 産生性の一因である可能性が示唆された。さらに、早産児・正期産児の新生児早期副腎機能について解析したところ、胎生皮質由来非抱合型 17 α Hpregnenolone、

DHEA は、早産児において正常産児より有意に高値であり、早産児において胎生皮質がより残存しているという病理所見と矛盾しない結果を得た。

3. 副腎皮質から SIK をクローニングし、SIK とその細胞内基質 TORC がステロイド合成酵素の遺伝子発現全般に関わっていることを証明した。具体的には ACTH シグナルを制御すること、CREB を抑制すること、CREB 共役因子 (TORC) をリン酸化することを明らかにし、またアルドステロン産生を誘導するアンジオテンシン II 効果の閾値を SIK が決定していることが明らかとなり、アルドステロン産生異常にこの SIK が関与していることを示唆した。
4. ステロイドスルファターゼ (STS) とコレステロール硫酸 (CS) はコレステロールのミトコンドリア内移動に重要な Steroidogenic acute regulatory protein (StAR 蛋白) の発現を調節する。STS は StAR 蛋白質を増やして、ステロイドホルモンの生産を促進し、CS は StAR 蛋白質の mRNA 量を低下させて StAR 蛋白質を減少させ、細胞におけるステロイドホルモンの産生を調節していることを明らかにした。
5. 動物モデルおよび培養細胞を用いた実験系によりメタボリックシンドローム (MS) およびグルココルチコイド (GC) 抵抗性の発症における 11β 水酸化ステロイド脱水素酵素 (11HSD) の関与について解析した結果、MS および GC 抵抗性の発症には GC 代謝異常が関与していることを示した。これまで GC 抵抗性の発症に関しては主に受容体レベルでの解析が行われてきたが、抵抗性の発症機序のごく一部を説明できるのみであった。この結果は抵抗性の

発症病因として前受容体レベルの関与を明らかにするものであり、今後効果的な GC 療法確立へ応用できるものと思われた。

6. 副腎皮質 Dab2 は球状層特異的に AII シグナルにより制御されること、コルチゾール産生代謝経路の遺伝的バリエーションは内臓脂肪蓄積など、いわゆる MS の判断基準に含まれる複数のリスクファクターと関連することを明らかにした。
7. HSD11B1 intron3 T/G 多型・H6PD R453Q 多型について内臓脂肪蓄積や脂質レベル、尿中コルチゾール排泄量との関連が検出されたことから、コルチゾールの産生から代謝に至る経路に存在する遺伝的なバリエーションが一部の表現型に影響することを明らかにした。
8. ステロイド抵抗症の研究において、GC 分泌調節における男性ホルモン受容体の機能を明らかにする研究で、アンドロゲン受容体は主に下垂体前葉におけるグルココルチコイド受容体 (GR) の発現を正に制御し、ACTH を介した GC 分泌を調節していることを明らかにした。また、酸化還元反応における GC、ミネラルコルチコイド受容体 (MR) の転写制御機構の解析を行い、受容体の分解制御による転写活性制御機構の存在を明らかにした。さらに、GR タンパクの分解制御が GR の転写活性に関与することを明らかにした。この分解を停止させることにより、未知の酸化還元起因する転写共役因子の同定を可能にできる糸口をつかんだと考えられる。さらに今後は未知の転写修飾因子を同定することにより、様々な GR の生理作用が明らかになるものと考えられる。GR の機能調節機構に関与する新しい抑制分子 HEXIM1 を発見した。こ

の分子が GC 応答性を規定する因子の一つであることを明らかにし、GC 作用機構の突破口となりつつある。この研究は GC 療法の臨床にも貢献することが期待される。また、Ubc9、NF- κ B は MR 作用を正または負に調節するが、ジェネティックおよびエピジェネティックな MR 作用の調節機構の存在が示唆された。

9. 薬剤投与下の高血圧患者の中から原発性アルドステロン症 (PA) をスクリーニングするのに血漿アルドステロン濃度/血漿レニン活性比 >20 が有用な指標であることを明らかにした。一般医家にも簡単なスクリーニング法を示し高血圧診療に役立つ指標を示した成果は大きい。
10. PA の確定診断法について比較検討したが、今後統一した診断方法の確立が望まれた。さらに、我が国の高血圧患者に占める PA の頻度を実地医家受診患者ベースで明らかにするため、初の全国調査を実施中である。専門医療機関紹介によるバイアスの影響を受けない形で、PA が頻度 0.1%に満たない稀少疾患であるのか、頻度 5%にも達するコモンディジーズかを明らかにすることができると期待される。また、本調査で得られる頻度は、実地医家が日常診療で PA に遭遇する頻度であり、PA のスクリーニング検査をどのように行うべきかを、医療経済的立場から検討するための基礎資料となる。
11. アルドステロンの血管障害の発生機構は MR を介するゲノム作用によるものと想定された。また、アルドステロンは血管新生を抑制することが *in vitro* で明らかにされ、虚血時の臓器障害の一因と考えられた。さらに、MDM2 は血管平滑筋細胞のアル

ドステロン応答遺伝子の 1 つであり、アルドステロンによる重要な心血管障害の一つである血管壁肥厚や血管のリモデリングに関与すると考えられた。加えて eplerenone は MDM2 を介したアルドステロンの血管障害の抑制にも有効である可能性も示唆された。

12. PA におけるアルドステロン産生には AT2R の関与が推察され、PA の糖代謝異常には脂肪組織におけるアルドステロンの直接作用が示唆された。さらに、ヒト HDL 受容体 CLA-1 に関する研究から、アルドステロン濃度が過剰となる PA において、血管弛緩反応の低下は動脈硬化性疾患発症に関与することを明らかにした。

また、アルドステロン過剰は心血管細胞に対して酸化ストレスを誘導し細胞障害的に作用することが判明した。このような状態が慢性的に経過することにより受容体の発現亢進を来し、さらにアルドステロン作用が増強する悪循環の存在が示されたことから、食塩過剰の生活環境を改善しアルドステロン作用を効果的に抑制することが心血管障害の防止に有効な手段となることが示唆された。

13. ステロイド (糖質コルチコイド) 補充療法の現状をアンケート調査し問題点を指摘した。我が国では原発性副腎皮質機能症では、コートリル 20mg の補充、二次性副腎皮質機能不全症では、15-20mg の補充量が多い。理論値よりも若干多目の補充量になっていると思われるが、副腎クリーゼ予防に観点の比重が置かれた補充療法の現状と認識できる。理想的には体重換算の補充と日内リズムに応じた補充が推奨されるが、剤型に多様性のない我が国の現状で

は、きめ細かい投薬は困難な状況にある。一方、補充療法の副作用としての高脂血症、耐糖能異常、MS の合併の観点からは、ACTH-コルチゾール系の選択的障害による ACTH 単独欠損症やアジソン病患者におけるコートリル補充の副作用発現頻度は GH や性腺ステロイドの分泌障害を伴う続発性副腎皮質機能不全症に較べて明らかに低頻度であり、その解釈にあたっては、複合ホルモン分泌不全や性腺機能低下症の影響を考慮し、他の障害ホルモンの補充療法も積極的に考慮することも重要である。

また、GC の作用発現は標的細胞により異なり、血管内皮細胞では GC 処理後の GR 発現量低下が、GC による GC 抵抗性獲得の分子機構を説明するものと考えられる。下垂体-副腎系や骨においては、微量の吸入ステロイド薬の影響も認められ、少量 ACTH 試験は吸入ステロイド薬の影響を判定するために有効である。さらに、続発性副腎皮質機能低下症患者では、インスリン低血糖に対する防御反応が低下しており、副腎皮質機能低下症でみられる症状の少なくとも一部は副腎髄質機能低下によるものと考えられた。

14. 副腎腺腫で CYP11B2 が高発現し、その蛋白の単離、精製に成功した。その他、転写因子や転写共役因子の発現様式やホルモン産生に関与することを明らかにした。
15. 副腎癌において Cetuximab 等の標的因子である EGFR が有意に高発現を示したことから、副腎癌では Cetuximab 等の EGFR に対する標的治療薬が有効である可能性が示唆された。

D. 考察

1) 達成度について

概ね計画していた目的を達成することができた。ただし、臨床的な多施設共同研究や全国疫学調査等の疫学的研究においては当該施設の倫理委員会承認に予想外の時間を要したため、研究期間内での登録や解析が完全とは言えなかった。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

新規疾患単位としての P450 oxidoreductase (POR) 異常症の同定や、胎仔副腎皮質特異的エンハンサーの同定は国際的にも学術的価値の高い成果と考える。特に POR 異常症を疾患単位として確立し、その診断法、病態解析は患者にとって朗報となろう。さらに、マウス・ヒトの間葉系細胞からステロイド産生細胞に分化誘導できた事実は世界初で、国際的にもその独創性と優位性は際立っており、将来の臨床応用に向けた基礎的な取り組みとして、学術的意義に加えて社会的意義も大きい。

本邦での原発性アルドステロン症 (PA) の実態調査がなされた意義は大きい。その診断基準、臨床所見、合併症の特徴が明らかになり、国際的にも貴重なデータとなる。現状を知ることによって PA の簡便な診断技術の向上を期待できる。また、一般医家にも簡単なスクリーニング法を示し、高血圧診療に役立つ指標となる。

その他、作成した診療指針 (案)、診断の手引きなどは今後臨床の場で利用されることが期待され、社会的有用性がある。

3) 今後の展望について

診療指針等は利用が進むことでその価値を高めると同時に新たな問題点の惹起

などが予想されるため、経時的な改定が必要となる。

副腎の再生医療に向けた研究は現在のところ世界をリードしており、今後の継続的発展が望まれる。現在広く行われているステロイドホルモン製剤を投与するホルモン補充療法よりも、はるかに優れた治療法の開発につながる可能性を秘めている。一方、その臨床応用までには多くの解決すべき問題点が残されており、特にその分化誘導メカニズムの解明は将来の治療への応用のためにも欠かすことができない。

原発性アルドステロン症 (PA) の実態調査から稀少疾患であることが確認されたが、しかし高血圧患者に占める割合が少なく、これは診断法に大きな問題をはらんでいるものと推測される。今後 PA の診断ならびに治療法に関するガイドラインを作成することが急務である。

本邦での副腎癌の診断ならびに治療法に関するガイドラインはない。また、病理診断の標準化が必要とされた。これにより早期診断・治療法 (薬物療法も含めて) が明確になり生命予後の改善が期待される。

本邦においても先天性副腎酵素欠損症の出生前診断・治療を考えている医師が多く、早急に診療ガイドラインの作成、診断施設の整備、広報活動などに対応できるシステム作りが望まれた。

ステロイド抵抗症治療のための病態解明と新規薬剤の開発が必要とされる。

今後、本調査研究班が担当する疾患の全国疫学調査が定期的 (例えば 10 年ごと) に実施されることが望まれる。

4) 研究内容の効率性について

稀少疾患であるため、このような研究班

の体制によって研究を推し進めていくことは本邦の実態把握ならびに他施設共同研究を行う上で効率がよいと考える。さらに、本研究班のように臨床的研究と基礎的研究の両方が同時に行われることで、それぞれの研究領域に大きな刺激が加えられるため、また両領域の研究者間の相互理解の場としても貴重な存在であり、非効率な点はないと思われる。

E. 結論

「原発性アルドステロン症」、「先天性副腎低形成症」に関してそれぞれ診断の手引きを作成した。また、「副腎偶発腫」について診断・治療指針を作成した。「先天性副腎過形成症」の診断基準の改訂を行った。副腎偶発腫、21-水酸化酵素欠損症の出生前診断・出生前治療、副腎癌についての全国調査を行い、実態を把握した。我が国の高血圧患者に占める PA の頻度を実地医家受診患者ベースで明らかにするため、全国調査を実施中である。ステロイド補充療法の現状をアンケート調査し問題点を指摘した。マウスとヒトの間葉系細胞からステロイド産生細胞へと分化誘導することに世界で初めて成功した。その他、先天性副腎疾患やステロイドホルモン抵抗症、原発性アルドステロン症の病因・病態について顕著な研究成果が得られた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

原著論文による発表：海外 63 件、国内 12 件

それ以外の発表：海外4件、国内40件
そのうち主なもの

<2005年>

- Fujieda K, Tajima T: Molecular basis of adrenal insufficiency. *Pediatr Res* 57:62R-69R, 2005
- Kurihara I, Shibata H, Kobayashi S, Suda N, Ikeda Y, Yokota K, Murai A, Saito I, Rainey WE, Saruta T: Ubc9 and protein inhibitor of activated STAT1 activate chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factor I-mediated human CYP11B2 gene transcription. *J Biol Chem* 280:6721-6730, 2005
- Fukami M, Horikawa R, Nagai T, Tanaka T, Naiki Y, Sato N, Okuyama T, Nakai H, Soneda S, Tachibana K, Matsuo N, Sato S, Homma K, Nishimura G, Hasegawa T, Ogata T: Cytochrome P450 oxidoreductase gene P450 mutations and Antley-Bixler syndrome with abnormal genitalia and/or impaired steroidogenesis: Molecular and clinical studies in 10 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 90:414-426, 2005
- Fukami M, Hasegawa T, Horikawa R, Ohashi T, Nishimura G, Homma K, Ogata T: Cytochrome P450 oxidoreductase deficiency in three patients initially regarded as having 21-hydroxylase deficiency and/or aromatase deficiency. *Pediatr Res* 59:276-280, 2005
- Yoshida M, Ma J, Tomita T, Morikawa N, Tanaka N, Masamura K, Kawai Y, Miyamori I: Mineralocorticoid receptor is overexpressed in cardiomyocytes of patients with congestive heart failure. *Congest Heart Fail* 11:12-16, 2005
- Tanahashi H, Mune T, Takahashi Y: Association of Lys173 Arg polymorphism with CYP11B2 expression level in normal adrenal glands and aldosterone-producing adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 90:6226-6231, 2005
- Takeda Y, Usukura M, Yoneda T, Oda N, Ito Y, Mabuchi H: The expression of messenger RNA of ADP-ribosyl cyclase in aldosterone-producing adenoma. *Clin Endocrinol (Oxf)* 62:504-508, 2005
- Katou-Fukui Y, Owaki A, Sotoyama Y, Kusaka M, Shinohara Y, Maekawa M, Toshimori K, Morohashi K: Mouse polycomb M33 is required for splenic vascular and adrenal gland formation through regulating Ad4BP/SF-1 expression. *Blood* 106:1612-1620, 2005
- Ikeda Y, Aihara K, Sato T, Akaike M, Yoshizumi M, Suzaka Y, Izawa Y, Fujimura M, Hashizume S, Kato M, Yagi S, Tamaki T, Kawano H, Matsumoto T, Azuma H, Kato S and Matsumoto T: Androgen receptor gene knockout male mice exhibit impaired cardiac growth and exacerbation of angiotensin II-induced cardiac fibrosis. *J Biol Chem* 280: 29661-29666, 2005
- Taniyama M, Tanabe M, Saito H, Ban Y, Nawata H, Yanase T: Subtle 17 α -hydroxylase/17, 20-lyase deficiency with homozygous Y201N mutation in an infertile woman. *J Clin Endocrinol Metab* 90:2508-2511, 2005
- Fukuda T, Takahashi K, Suzuki T, Saruta